

JURNAL

PENGARUH KINETIN DAN ASAM 2,4 DIKLOROFENOKSIASETAT TERHADAP KANDUNGAN METABOLIT SEKUNDER KALUS DAUN POHPOHAN (*Pilea trinervia* Wight)

Disusun oleh:

Venansius Galih Perkasa Putra

NPM: 100801151



**UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
YOGYAKARTA
2015**

**PENGARUH KINETIN DAN ASAM 2,4 DIKLOROFENOKSIASETAT
TERHADAP KANDUNGAN METABOLIT SEKUNDER
KALUS DAUN POHPOHAN (*Pilea trinervia* Wight)**

**THE INFLUENCE OF KINETIN AND 2,4 DICHLOROPHENOXYACETIC ACID
AGAINST SECONDARY METABOLITES CONTENT IN POHPOHAN (*Pilea
trinervia* Wight) LEAVES CALLUS**

Venansius Galih Perkasa Putra¹, C. J. Soegihardjo², P. Kianto Atmodjo³
Program Studi Teknobiologi Industri, Fakultas Teknobiologi
Universitas Atma Jaya Yogyakarta
venansius.galih@gmail.com

Abstrak

Pohpohan (*Pilea trinervia* W) merupakan salah satu tanaman yang dimanfaatkan oleh masyarakat di Jawa Barat sebagai lalapan. Ekstrak daun Pohpohan mengandung metabolit sekunder yaitu alkaloid dan steroid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui cara sterilisasi eksplan daun pohpohan, mengetahui kombinasi zat pengatur tumbuh kinetin dan 2,4D pada medium MS yang tepat untuk menghasilkan kalus daun pohpohan terbaik, dan mengetahui kandungan metabolit sekunder pada kalus daun pohpohan. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap faktorial dengan perlakuan tanpa ZPT, variasi konsentrasi Kinetin dan 2,4 D, dan kombinasi kinetin dan 2,4 D sebanyak tiga kali ulangan. Medium yang digunakan adalah medium Murashige-Skoog. Variasi konsentrasi ZPT Kinetin yang digunakan adalah 0,05; 0,1; 0,15 ppm, dan 2,4D 0,5; 1; 1,5 ppm, serta kombinasi konsentrasi dari kedua ZPT. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan ANOVA dengan tingkat kepercayaan 95%. Apabila hasil ANOVA menunjukkan hasil yang beda nyata, analisis dilanjutkan *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) untuk mengetahui beda nyata antara perlakuan. Analisis ANOVA dan DMRT menggunakan program SPSS 20. Pada penelitian ini dilakukan optimasi sterilisasi eksplan, dan didapat keberhasilan sterilisasi sebesar 77%. Data kuantitatif yang diperoleh meliputi waktu pembentukan kalus, indeks pertumbuhan kalus, presentase terbentuknya kalus, sedangkan untuk data kualitatif yaitu bentuk kalus (tekstur dan warna). Analisis kandungan metabolit sekunder pada kalus menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis. Fase gerak yang digunakan untuk analisis alkaloida adalah etil asetat-metanol-air (100:13,5:10), triterpenoida menggunakan kloroform-asam asetat glasial-metanol-air (64:32:12:8) dan flavonoida menggunakan etil asetat-asam formiat-asam asetat glasial-air (100:11:11:26). Deteksi adanya alkaloida menggunakan pereaksi semprot Dragendroff, untuk triterpenoida pereaksi Liberman-Burchard, dan flavonoida menggunakan pereaksi semprot aluminium klorida. Hasil penelitian menunjukkan bahwa eksplan daun Pohpohan dapat membentuk kalus pada medium yang mengandung 2,4D. Kalus yang terbentuk berwarna putih-kuning-kehijauan, dan berstruktur meremah (*friable*). Hasil perhitungan kuantitatif menunjukkan tidak ada perbedaan waktu pembentukan dan indeks pertumbuhan pada variasi konsentrasi ZPT serta kombinasinya. Hasil analisis metabolit sekunder menunjukkan kalus dari eksplan daun Pohpohan mengandung alkaloida, triterpenoida dan flavonoida.

Kata kunci: *Pilea trinervia*, kalus, metabolit sekunder, KLT

PENDAHULUAN

Daun pohpohan sering dikonsumsi masyarakat sebagai lalapan, karena daunnya sangat lunak dan memiliki aroma yang khas atau berbau harum yang disukai. Daun muda dari pucuk pohpohan merupakan bagian utama yang dikonsumsi. Pohpohan juga sering ditanam sebagai tanaman pagar atau ornamental (Ochse, 1980). Kandungan fitokimia yang terkandung dalam daun pohpohan adalah steroid atau triterpenoida, alkaloida, dan flavonoida (Amalia dkk., 2006). Menurut Desmiati (2001), daun segar pohpohan mengandung asam askorbat, senyawa fenol, α -tokoferol, dan β -karoten yang berfungsi sebagai antioksidan. Kandungan fitokimia inilah yang membuat pohpohan baik untuk dikonsumsi dan dipercaya dapat menyembuhkan sakit perut.

Selama ini perbanyakan tanaman pohpohan hanya dilakukan dengan stek maupun penanaman biji, oleh karena itu perlu dilakukan perbanyakan menggunakan metode Kultur Jaringan Tanaman (KJT). Teknik KJT semula ditujukan untuk penelitian dasar di bidang biologi, terutama untuk pembuktian totipotensi sel. Sekarang teknik KJT ini sudah berkembang dengan pesat dan dipergunakan untuk berbagai keperluan lain terutama di bidang agrobisnis dan farmasi. Pada bidang agrobisnis aplikasi teknik KJT dapat menekan biaya produksi yang cukup besar khususnya dalam bidang produksi bibit, bibit yang diproduksi dalam jumlah besar dan dengan waktu yang relatif singkat, tidak memerlukan lahan yang luas, tidak bergantung pada iklim, dan bebas hama dan penyakit, sehingga dapat didistribusikan melewati batas-batas negara tanpa harus melalui prosedur karantina (Nurheti, 2010).

Cold finger merupakan metode modifikasi dari metode refluks yang bertujuan untuk mengekstraksi suatu materi tumbuhan dalam skala yang kecil. Metode ini menggunakan sebuah tabung gelas yang berbentuk jari, yang diletakkan di atas tabung penyari selama proses penyarian dengan pemanasan. Tabung *cold finger* diisi air dengan tujuan untuk

mendinginkan bagian atas dari tabung penyari sehingga uap pelarut terkondensai dan menjaga senyawa volatil tidak hilang akibat penguapan (Ferreira dkk., 2013).

Kromatografi lapis tipis merupakan salah satu analisis kualitatif dari suatu sampel yang ingin dideteksi dengan memisahkan komponen-komponen sampel berdasarkan perbedaan kepolaran. Prinsip kerjanya memisahkan sampel berdasarkan perbedaan kepolaran antara sampel dengan pelarut yang digunakan. Teknik ini biasanya menggunakan fase diam dari bentuk plat silika dan fase geraknya disesuaikan dengan jenis sampel yang ingin dipisahkan. Larutan atau campuran larutan yang digunakan dinamakan eluen (Skoog, dkk, 1996).

Terdapat beberapa permasalahan yang diangkat dalam penelitian ini, yaitu bagaimana cara sterilisasi eksplan daun pohpohan?; kombinasi zat pengatur tumbuh kinetin dan 2,4 D pada medium MS manakah yang menghasilkan kalus daun pohpohan yang terbaik?; dan apakah kalus daun pohpohan mengandung metabolit sekunder alkaloida, flavonoida, dan steroida atau triterpenoida? Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui cara sterilisasi eksplan daun pohpohan, mengetahui kombinasi zat pengatur tumbuh kinetin dan 2,4D pada medium MS yang tepat untuk menghasilkan kalus daun pohpohan terbaik, dan mengetahui kandungan metabolit sekunder pada kalus daun pohpohan.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta dan Laboratorium Kimia Analisis Instrumentasi Sanata Dharma. Bagian tanaman yang digunakan sebagai eksplan adalah potongan daun tanaman pohpohan (*Pilea trinervia*) yang merupakan daun muda yang berasal dari Bogor. Medium yang digunakan adalah media dasar Murashige dan Skoog (MS) dengan variasi konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) kinetin dan asam 2,4 diklorofenoksiasetat. Kombinasi dan variasi konsentrasi medium yang dilaksanakan dalam penelitian ini adalah:

Tabel 1. Variasi Konsentrasi dan Kombinasi ZPT yang digunakan.

		ULANGAN	2,4D (mg/l)			
			0	0,5	1	1,5
KINETIN (mg/l)	0	1	T1	DA 1	DB 1	DC 1
		2	T2	DA 2	DB 2	DC 2
		3	T3	DA 3	DB 3	DC 3
	0,05	1	KA 1	KADA 1	KADB 1	KADC 1
		2	KA 2	KADA 2	KADB 2	KADC 2
		3	KA 3	KADA 3	KADB 3	KADC 3
	0,1	1	KB 1	KBDA 1	KBDB 1	KBDC 1
		2	KB 2	KBDA 2	KBDB 2	KBDC 2
		3	KB 3	KBDA 3	KBDB 3	KBDC 3
	0,15	1	KC 1	KCDA 1	KCDB 1	KCDC 1
		2	KC 2	KCDA 2	KCDB 2	KCDC 2
		3	KC 3	KCDA 3	KCDB 3	KCDC 3

Penelitian dilakukan dalam 5 tahap, yaitu:

1. Sterilisasi Eksplan

Daun dipetik, kemudian disikat dengan diberi larutan detergen. Daun dipotong-potong menjadi 2 atau 3 bagian, dibilas air mengalir. Sterilisasi dilanjutkan menggunakan campuran 250 mg bakteriosida (Agrept 20WP), 750 mg fungisida (Diathane M-45), detergen cair, dan air sebanyak 250 ml. Daun direndam sambil diaduk selama 15 menit, dibilas dan direndam menggunakan air mengalir selama 10 menit. Sterilisasi eksplan kemudian dilanjutkan di dalam LAF menggunakan campuran larutan NaClO, akuades steril dan tween 20, konsentrasi NaClO 50% selama 3 menit, 30% selama 5 menit, dan 10% selama 7 menit, lalu dibilas sebanyak 3 kali menggunakan akuades steril selama 3, 5, dan 10 menit. Potongan eksplan direndam dalam etanol 70% selama 60 detik, lalu dikeringkan menggunakan kertas saring steril.

2. Induksi kalus

Eksplan steril dipotong-potong menggunakan pisau skalpel steril berbentuk persegi ukuran 1 cm², kemudian ditanam ke medium MS yang telah tersedia. Satu botol medium diisi 2 potong eksplan. Setelah ditanam botol kultur ditutup *aluminium foil* steril kemudian dibungkus plastik *wrap*, dan ditimbang. Eksplan diinkubasi pada suhu 22-28°C dan disinari lampu TL selama 24 jam. Parameter yang diukur adalah waktu pembentukan kalus, bentuk, tekstur dan warna kalus, waktu subkultur kalus, bobot basah dan bobot kering kalus.

3. Subkultur

Kalus yang berumur 14 hari diambil dari botol kultur yang lama kemudian dipotong menjadi dua bagian, dimasukkan ke dalam botol kultur yang baru, ditutup *aluminium foil*, kemudian ditimbang dan dibungkus plastik *wrap*. Kalus diinkubasikan lagi selama 14 hari.

4. Ekstraksi

Kalus daun Pohpohan usia 28 hari ditimbang, dikeringkan menggunakan oven pada suhu 40°C selama 24 jam. Kalus kering dihancurkan, dimasukkan ke tabung reaksi. Kalus direndam dalam metanol sebanyak 5 ml, divorteks selama 5 menit. Tabung penyarian ditutup menggunakan tabung reaksi yang berukuran yang lebih kecil yang berisikan air dingin sebagai kondensor. Tabung dipanaskan di dalam *waterbath* pada suhu 70°C selama 15 menit. Tabung divorteks selama 5 menit, kemudian disaring. Pelarut diuapkan hingga volume 0,5 ml, ekstrak disimpan dalam tabung reaksi tertutup.

5. Analisis KLT

Ekstrak ditotolkan pada plat KLT Silika gel 60 F₂₅₄ ukuran 10x20cm sebanyak 30µ. Bentuk totolan sampel diatur menggunakan perangkat lunak WinCATS yaitu berbentuk garis sepanjang 5 mm dengan jarak antara sampe 8 mm, dan panjang elusi

yang digunakan adalah 8 cm. Plat dielusi dielusi hingga tanda batas, penjuhan *chamber* dibantu oleh kertas saring.

Menurut Mohammad (2010) alkaloida secara umum dapat dilihat menggunakan fase gerak toluen-etil asetat-dietilamin (70:20:10), sedangkan steroida atau triterpenoida menggunakan kloroform-asam asetat glasial-metanol-air (64:32:12:8) dan flavonoida adalah etil asetat-asam format-asam asetat glasial-air (100:11:11:26) (Wagner dan Bladt, 1995). Standar yang digunakan adalah kinina untuk pembanding Alkaloida, kuersetin untuk pembanding flavonoida, dan saponin untuk pembanding steroida atau triterpenoida.

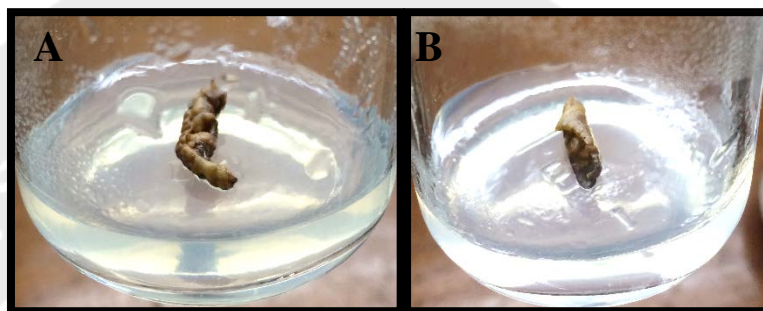
Plat dimasukkan ke dalam kotak khusus, yaitu Camag UV Visualizer untuk melihat hasil pendaran menggunakan lampu UV pada panjang gelombang 254 dan 365 nm. Setelah itu masing masing plat disemprot pereaksi Dragendroff untuk melihat adanya alkaloida, pereaksi Liberman-Burchard untuk melihat adanya steroida atau terpenoida, dan pereaksi alumunium klorida untuk melihat adanya flavonoida (Mohammad dkk., 2010; Wagner dan Bladt, 1995). Plat yang telah disemprot diamati dalam cahaya tampak, UV 254 dan 365 nm, kemudian bercak-bercak yang nampak diamati.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembentukan kalus terjadi karena adanya luka yang diberikan pada eksplan, sehingga sel-sel yang rusak tersebut berupaya untuk memperbaiki dirinya. Awal pembentukan kalus, yaitu terjadinya pembentangan dinding sel dan penyerapan air, sehingga sel akan membengkak dan selanjutnya akan terjadi pembelahan sel

Pada penelitian ini, penggunaan ZPT 2,4D sangat efektif dalam proses pembentukan kalus Pohpohan. Hal ini dapat dilihat dari semua variasi medium yang mengandung 2,4D dapat menginduksi kalus. Hal yang sebaliknya terjadi pada medium

tanpa ZPT dan medium yang hanya mengandung kinetin. Kedua variasi medium ini tidak dapat menginduksi kalus Pohpohan sama sekali. Hal ini dapat diamati dari eksplan yang ditumbuhkan pada medium tanpa ZPT dan medium Kinetin eksplan tetap berbentuk daun yang menggulung dan semakin lama mengalami *browning* dan pada akhirnya mengalami kematian (Gambar 1).



Gambar1. Eksplan Mati pada Medium Tanpa Kandungan 2,4D pada hari ke-28 Masa Inkubasi (Dokumentasi pribadi, 2014)

Keterangan: A. Medium Tanpa ZPT; B. Medium Hanya Mengandung Kinetin

Pembentukan kalus pada daun Pohpohan diawali dengan melengkungnya eksplan. Melengkungnya ekplan ini terjadi pada hari ke-2 pada masa inkubasi, pelengkungan daun ini terjadi pada semua eksplan yang diinkubasi pada 16 jenis variasi medium. Inisiasi kalus dilanjutkan dengan mulai terbentuknya kalus pada bagian pinggiran eksplan pada hari ke ± 10 . Subkultur dilakukan pada hari ke-14 pada masa inkubasi. Hari ke-14 merupakan pertengahan dari masa inkubasi kalus daun Pohpohan yaitu 28 hari. Subkultur dilakukan agar kalus mendapatkan nutrisi yang baru serta pembagian kalus menjadi dua bagian untuk memicu pertumbuhan kalus agar lebih cepat.

Pembentukan kalus dari eksplan daun pohpohan yang ditumbuhkan pada medium MS dengan variasi ZPT, yaitu Kinetin dan 2,4 D terjadi pada kisaran hari ke-9 hingga 11 pada masa inkubasi (Tabel 2). Kalus yang terbentuk pertama kali terdapat pada bekas luka pada pinggiran eksplan. Eksplan yang ditumbuhkan pada medium tanpa

ZPT dan hanya mengandung Kinetin pada ketiga konsentrasi tidak terjadi induksi kalus sehingga tidak ada data pada keempat perlakuan tersebut.

Dari hasil analisis Anava yang dilakukan menunjukkan bahwa waktu pembentukan kalus dari semua variasi penambahan ZPT tidak beda nyata, karena nilai signifikasni yang didapat sebesar 0,925 pada tingkat kepercayaan 95% (Tabel 2). Hasil tersebut menunjukkan bahwa kombinasi berbagai konsentrasi ZPT yang digunakan tidak mempengaruhi waktu pembentukan kalus eksplan daun pohpohan.

Tabel 2. Waktu Pembentukan Kalus Daun Pohpohan

		2,4D (mg/l)			
		0	0,5	1	1,5
KINETIN (mg/l)	0	T	10 ^a	9,67 ^a	3,3 ^a
	0,05	T	7,33	6,67 ^a	7 ^a
	0,1	T	10 ^a	3,33 ^a	7 ^a
	0,15	T	6,67 ^a	9 ^a	6,67 ^a

Keterangan : angka pada baris dan kolom yang sama diikuti dengan huruf berbeda menunjukkan adanya beda nyata pada tingkat kepercayaan 95%.

Keberhasilan dari teknik kultur jaringan dapat dilihat dari presentase induksi kalus yang terjadi (Tabel 3). Presentase induksi kalus dapat dihitung dari jumlah eksplan yang berhasil menginduksi kalus dibagi dengan jumlah total eksplan yang ditanam dikalikan 100%. Hasil yang diperoleh adalah sebesar pada penelitian ini adalah 54,17%. Presentasi dari induksi kalus yang didapat cukup rendah, hal ini disebabkan karena presentase kontaminasi yang terjadi cukup besar, yaitu 23%.

Tabel 3. Presentase terbentuknya kalus eksplan daun pohpohan

		2,4D (mg/l)			
		0	0,5	1	1,5
KINETIN (mg/l)	0	0%	100 %	100 %	33,3 %
	0,05	0%	66,7 %	66,7 %	66,7 %
	0,1	0%	100 %	33,3 %	66,7 %
	0,15	0%	66,7 %	100 %	66,7 %

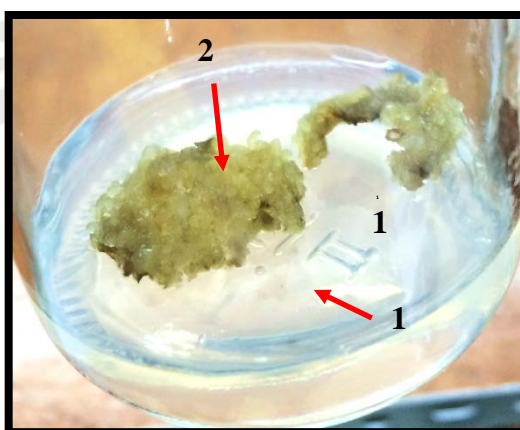
Hasil dari analisis statistik menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan nyata indeks pertumbuhan pada variasi ZPT yang digunakan yaitu dengan nilai signifikansi sebesar 0,086 pada tingkat kepercayaan 95% (Tabel 4). Hal ini menunjukkan bahwa dari semua variasi konsentrasi medium yang digunakan belum menunjukkan adanya beda nyata pada variasi konsentrasi ZPT antara kinetin dan 2,4 D yang dapat memacu pertumbuhan dan perkembangan kalus yang terbaik.

Tabel 4. Selisih berat basah kalus eksplan daun pohpohan

		2,4D (mg/l)			
		0	0,5	1	1,5
KINETIN (mg/l)	0	T	355,07 ^{abc}	331,97 ^{abc}	122,93 ^{ab}
	0,05	T	157,13 ^{ab}	463,2 ^{bc}	234,03 ^{abc}
	0,1	T	567,57 ^c	68,73 ^a	116,77 ^{ab}
	0,15	T	338,2 ^{abc}	283,8 ^{abc}	124,4 ^{ab}

Keterangan : angka pada baris dan kolom yang sama diikuti dengan huruf berbeda menunjukkan adanya beda nyata pada tingkat kepercayaan 95%.

Kalus yang terbentuk dari eksplan daun pohpohan merupakan kalus yang berstruktur friable, atau meremah. Hal ini dapat dilihat dari gambar 2, yaitu kalus yang terbentuk nampak seperti seperti terpisah-pisah dan mudah terlepas satu sama lain, warna kalus yang terbentuk adalah putih-kuning-kehijauan.



Gambar2. Tekstur dan Warna Kalus yang Terbentuk dari Eksplan Daun Pohpohan (Dokumentasi pribadi, 2014)

Keterangan: 1. Medium; 2. Kalus

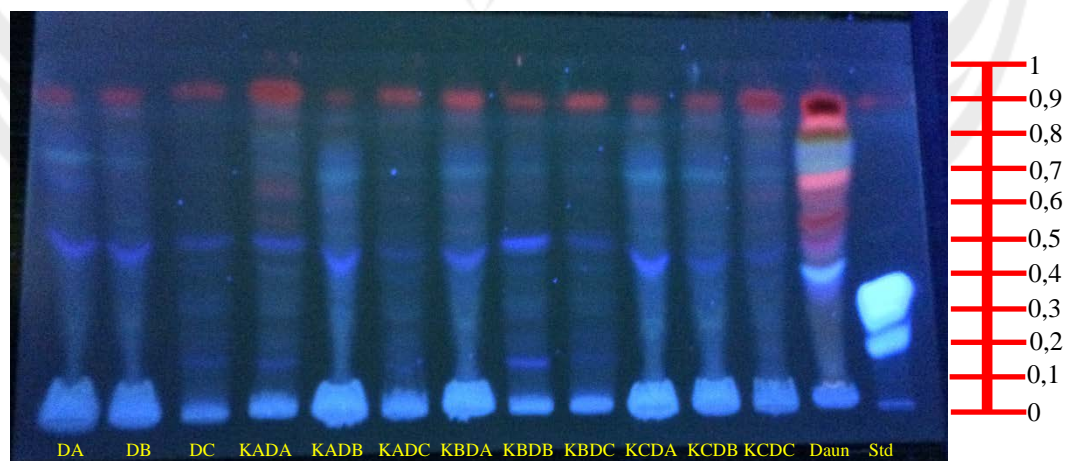
Hasil pengujian kualitatif alkaloid menunjukkan bahwa ekstrak kalus dan daun pohpohan mengandung alkaloida. Hal tersebut dikarenakan terdapat bercak berwarna

orange pada Rf 1 pada semua sampel ekstrak kalus dan daun Pohpohan, dimana warna orange yang timbul sama dengan bercak warna orange pada standar alkaloid yaitu kinina yang diamati menggunakan cahaya tampak (Gambar 3). Terdapat perbedaan nilai Rf antara ekstrak kalus dan daun pohpohan dengan kinina, hal ini menandakan bahwa senyawa alkaloid yang terkandung dalam ekstrak kalus dan daun pohpohan bukan Kinina.



Gambar 3. Pengujian Kualitatif Senyawa Alkaloida pada cahaya tampak (Dokumentasi Pribadi, 2014)

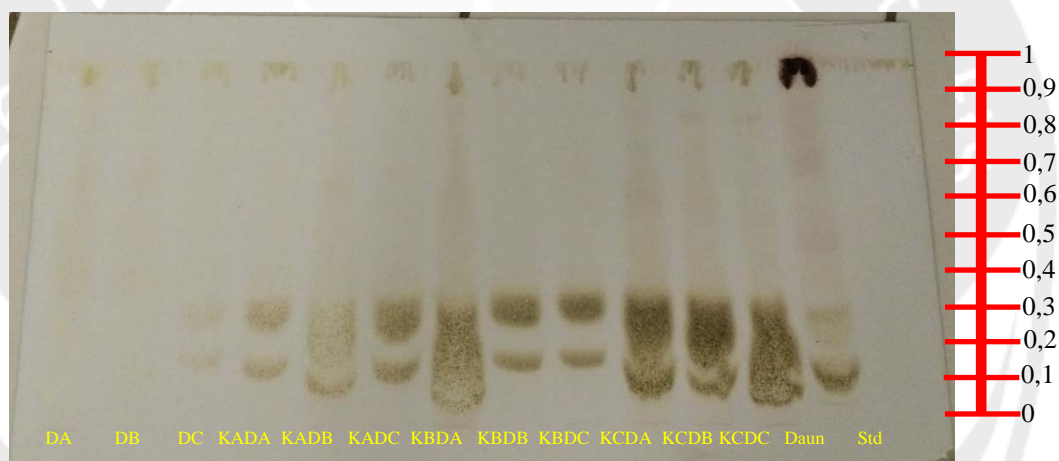
Keterangan: Fase diam= Silica gel F254; Fase gerak= etil asetat-metanol-air (100:13,5:10);
Pereaksi Semprot= Dragendroff



Gambar 4. Pengujian Kualitatif Senyawa Alkaloida pada sinar UV 365 nm (Dokumentasi Pribadi, 2014)

Keterangan: Fase diam= Silica gel F254; Fase gerak= etil asetat-metanol-air (100:13,5:10);
Pereaksi Semprot= Dragendroff

Hasil pengujian kualitatif di bawah sinar tampak menunjukkan terdapat bercak-bercak berwarna violet pada sampel ekstrak kalus dan daun Pohpohan, sedangkan pada sampel standar tidak terdapat bercak, hal ini terjadi karena konsentrasi standar yang ditotolkan terlalu sedikit sehingga tidak terdeteksi (Gambar 5). Pengamatan di bawah sinar UV 254 terdapat peredaman fluoresensi pada bercak yang nampak di bawah cahaya tampak. Hal ini terjadi karena senyawa triterpenoida yang ada telah bereaksi dengan pereaksi Lieberman-Burchard (Gambar 13). Pengamatan dibawah sinar UV 365 nm, bercak triterpenoida yang telah bereaksi dengan pereaksi Liberman-Burchard tidak berfluoresensi (Gambar 13).



Gambar 5. Pengujian Kualitatif Senyawa Triterpenoida Cahaya Tampak (Dokumentasi Pribadi, 2014)

Keterangan: Fase diam= Silica gel F254; Fase gerak= kloroform-asam asetat glasial-metanol-air (64:32:12:8); Pereaksi Semprot= Lieberman-Burchard

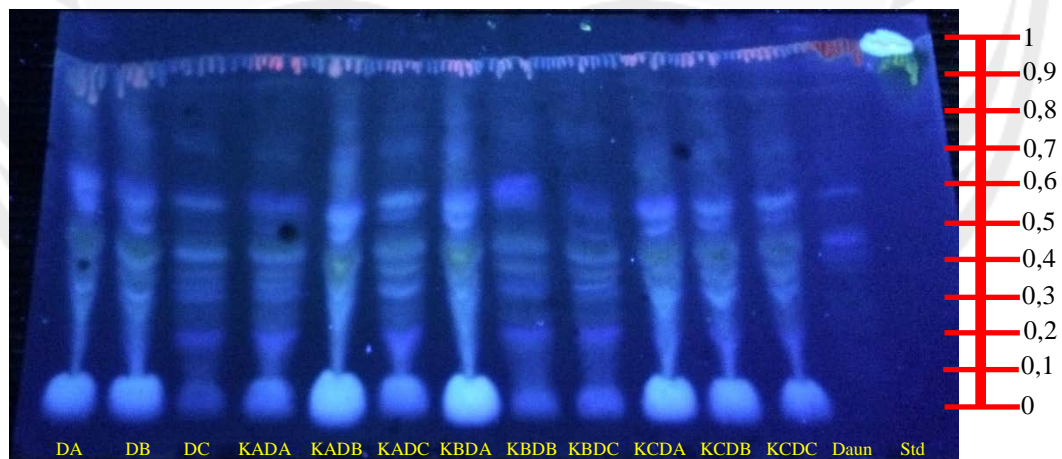
Hasil pengujian kualitatif di bawah sinar tampak menunjukkan terdapat bercak-bercak kuning pada sampel ekstrak kalus dan daun pohpohan serta kuersetin (Gamba 6). Hal ini menunjukkan adanya kandungan flavonoida pada ekstrak kalus dan daun pohpohan. Pengamatan di bawah sinar UV 254 menunjukkan adanya bercak peredaman fluoresensi pada bercak flavonoid yang telah bereaksi dengan pereaksi semprot alumunium klorida. Pengamatan di bawah sinar UV 365 menunjukkan terdapat bercak berfluoresensi warna kuning pada sampel ekstrak kalus dan daun Pohpohan serta

kuersetin (Gambar 7). Terdapat perbedaan nilai Rf antara bercak yang terdapat pada sampel ekstrak kalus dan daun pohpohan dengan sampel kuersetin, hal ini menunjukkan bahwa senyawa flavonoid yang terdapat pada ekstrak kalus dan daun pohpohan bukanlah kuersetin melainkan jenis flavonoida lainnya.



Gambar 6. Pengujian Kualitatif Senyawa Flavonoida Cahaya Tampak (Dokumentasi Pribadi, 2014)

Keterangan: Fase diam= Silica gel F254; Fase gerak= etil asetat-asam formiat-asam asetat glasial-air (100:11:11:26); Pereaksi Semprot: Alumunium klorida



Gambar 7. Pengujian Kualitatif Senyawa Flavonoida pada sinar UV 365 nm (Dokumentasi Pribadi, 2014)

Keterangan: Fase diam= Silica gel F254; Fase gerak= etil asetat-asam formiat-asam asetat glasial-air (100:11:11:26); Pereaksi Semprot: Alumunium klorida

SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

1. Sterilisasi permukaan eksplan daun pohpohan yang optimal adalah menggunakan campuran fungisida, bakterisida dan detergen cair selama 15 menit, perendaman pada campuran NaClO konsentrasi 50, 30, dan 10% dengan akuades steril dan tween 20 selama 3, 5 dan 7 menit, dilanjutkan perendaman pada etanol 70% selama 60 detik berturut-turut.
2. Tidak ada beda nyata waktu pembentukan kalus dan indeks pertumbuhan kalus dari semua variasi konsentrasi zat pengatur tumbuh kinetin dan 2,4 D serta kombinsinya.
3. Kalus daun Pohpohan mengandung metabolit sekunder, yaitu alkaloida, triterpenoida, dan flavonoida.

B. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian menggunakan eksplan biji pohpohan.
2. Perlu dilakukan optimasi kombinasi ZPT yang digunakan untuk pembentukan kalus, agar mendapatkan kalus yang terbaik.
3. Perlu dilakukan adanya fotoperiode selama masa inkubasi kalus.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih saya ucapkan kepada kedua dosen pembimbing saya yaitu Prof. Dr. C. J. Soegihadjo, Apt., dan Drs. P. Kianto Atmodjo, M.Si., dan kepada dosen penguji skripsi saya yaitu Dra. E. Mursyanti, M.Si. serta kepada Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta. Trima kasih juga saya ucapkan kepada kedua orang tua saya, keluarga besar, dan seluruh sahabat dan teman-teman baik di FTB maupun PSM UAJY yang selalu menemani, dan mendukung saya.

DAFTAR PUSTAKA

Amalia, R., Fidrianny, I., dan Sukarso. 2006. Telaah Kandungan Kimia Ekstrak Etil Asetat Daun Pohpohan (*Pilea trinervia* Wight.). *Skripsi*. Fakultas Farmasi Institut Teknologi Bandung, Bandung.

- Desmiati, S. 2001. Kajian Serat Pangan dan Antioksidan Alami Beberapa Jenis Sayuran Serta Daya Serap dan Retensi Antioksidan Pada Tikus Percobaan. *Tesis-S2*. Program Pascasarjana Ilmu Pangan Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Ferreira, S. L. C., Silva, L. O. B., de Santana, F. A., Junior, M. M. S., Matos, G. D. Dan dos Santos, W. N. L. 2013. A Review of Reflux System Using Cold Finger for Sample Preparation in the Determination of Volatile Elements. *Microchem. J.*, 106: 307-310.
- Mohammad, A., Bhawani, S. A., dan Sharma, S. 2010. Analysis of Herbal Products by Thin-layer Chromatography: A Review. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. V1(2)2010
- Nurheti, Y. 2010. *Kultur Jaringan Tanaman Skala Rumah Tangga*. Lily Publisher, Yogyakarta.
- Ochse, J. J. dan van den Brink, R. C. B. 1980. *Vegetables of Dutch East Indies*. Asher & Co., Amsterdam.
- Skoog, D. A., West, D. M., dan Holler, F. J. 1996. *Fundamentals of Analytical Chemistry 7th edition*. Saunders College Publishing, New York.
- Wagner, H. and Bladt, S. 1996. *Plant Drug Analysis*. Springer, German.